Photosynthetische Sulfidoxydation grüner Pflanzen

Inaugural-Dissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Karl Knobloch
aus Neisse / Oberschlesien

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

1966

1966 № 221

Als Dissertation genehmigt von der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1966

Dekan: Universitätsprofessor Dr. E. Wirth
Berichterstatter:
Universitätsprofessor Dr. E. Kessler
Berichterstatter:
Universitätsprofessor Dr. W. Haupt

Sonderdrucke aus:
Planta (Berl.) 70, 73-86 (1966)
Planta (Berl.) 70, 172-186 (1966)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Planta (Berl.) 70, 73—86 (1966)

PHOTOSYNTHETISCHE SULFID-OXYDATION GRÜNER PFLANZEN

I. Mitteilung

KARL KNOBLOCH

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Eingegangen am 12. April 1966

PHOTOSYNTHETIC OXIDATION OF SULPHIDE BY GREEN PLANTS. I.

Summary. Hydrogen sulphide is an essential electron donor in the photosynthesis of sulphur bacteria. In addition, it has been known to be an inhibitor of photosynthesis in green plants. More specifically, it is assumed that sulphide interacts with the oxygen-evolving system. If the view is accepted that there is a more or less uniform concept of photosynthesis which is valid for all assimilating organisms, the role of sulphide as an inhibitor in green plant photosynthesis hardly seems to be acceptable.

Our experiments show that sulphide indeed depresses photosynthetic oxygen evolution. However, during the period of decreased oxygen liberation, sulphide at a concentration up to 10^{-3} M is oxidized by the living cells. During the oxidation of sulphide, photosynthetic oxygen evolution simultaneously increases. Oxidation of sulphide proceeds only in the light and in the presence of CO_2. This new photosynthetic reaction has characteristics in common with CO_2 assimilation. The rate of the sulphide oxidation reaction is comparatively low: when there is normal activity, 10 to 15 molecules of 0_2 are liberated while one molecule of S^{--} is oxidized.

Organisms tested thus far were blue-green, green and red algae as well as the flowering plants *Lemna* and *Spirodela*. Each of these plants, when photosynthetically active, was capable of oxidizing sulphide photosynthetically, indicating that S^{--} may also play the role of a (secondary) electron donor in the photosynthesis of green plants.

I. Einleitung

Die Photosynthese verläuft nicht einheitlich unter den Organismen. Wasser und Kohlendioxyd sind nicht immer die einzigen Reaktionspartner, die für eine CO_2-Assimilation ausreichend sind. Das zeigen die verschiedenen Formen bakterieller Photosynthese. Doch spricht vieles dafür, daß dem Photosynthese-Vorgang allgemein ein mehr oder weniger einheitliches Konzept zu Grunde liegt.

So findet sich bakterielle Photosynthese auch bei einigen grünen Pflanzen. Viele Algen besitzen mit dem Enzym Hydrogenase die für sie artspezifisch charakteristische Fähigkeit zur CO_2-Reduktion mit molekularem Wasserstoff (KESSLER et al., 1963). Sie sind neben ihrer ökologischen Form zu assimilieren auch noch zur bakteriellen Wasserstoff-Photosynthese in Anaerobiose unter Umgehung des Sauerstoff entwickelnden Systems befähigt (GAFFRON, 1940, 1944; KESSLER, 1960, 1962).

Darüber hinaus finden die grundlegenden primären Vorgänge der bakteriellen Photosynthese und die der grünen Pflanzen eine gemeinsame Deutung. — In der Sicht von ARNON (1959, ARNON et al., 1965) verursacht Licht einen Elektronenschub aus dem Chlorophyllmolekül, der eng gekoppelt ist mit der Übernahme von Elektronen aus dem benachbarten Cytochrom f. Es folgt ein Transport durch ein geschlossenes System von Elektronenüberträgern. Dabei kommt es zur Bildung von ATP, das in der Photosynthese der grünen Pflanzen und der Bakterien den Energielieferanten für die CO_2-Fixierung darstellt (vgl. auch STANIER, 1961). — GAFFRON (1963) zeigt außerdem einen allgemein möglichen Photosynthesemechanismus, dem ein einheitlicher Energiebetrag zu Grunde liegt.

Unter diesem Gesichtspunkt interessiert, ob es (neben der Photosynthese mit molekularem Wasserstoff) noch weitere gemeinsame Reaktionen gibt, die aus der Bakterien-Photosynthese bekannt sind, bei grünen Pflanzen aber noch nicht aufgefunden wurden. So ist unter der Voraussetzung eines allgemein gültigen Grundmechanismus der Photosynthese die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß Elektronendonatoren bakterieller Photosynthese wie Sulfid, Thiosulfat, Alkohole u. a. auch eine Rolle als (sekundäre) Wasserstoffdonatoren in der Photosynthese grüner Pflanzen spielen können.

Die Frage scheint zunächst uninteressant im Hinblick auf den Schwefelwasserstoff. Seit mehr als 40 Jahren ist nämlich bekannt, daß Sulfid ein Photosynthesegift für höhere Pflanzen ist (NEGELEIN, 1925). Und seit 10 Jahren sieht man die Giftwirkung des H_2S in einem Eingreifen in das Enzymsystem der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung (DAMASCHKE u. ROTHBÜHR, 1955).

Angeregt durch einige in andere Richtung deutende Hinweise sind wir der Frage nachgegangen, welche Rolle dem Schwefelwasserstoff in der Photosynthese der grünen Pflanzen zukommt.

Einmal findet sich die Mitteilung (NAKAMURA, 1937), daß Vertreter der Blaualgen, Kieselalgen und Flagellaten über Tage eine Kultur in einem Nährmedium vertragen, das bis zu 0,5% Na_2S enthält (entsprechend einer Konzentration von 2×10^{-3} m).

Der Befund des gleichen Autors, Schwefelwasserstoff solle in den getesteten Algen sogar wie bei den Schwefelbakterien mit zur Assimilation von CO_2 herangezogen werden, kann nicht als zutreffend übernommen werden. Wie wir nachprüften, stützt sich das Ergebnis auf manometrische Gaswechselmessungen bei pH 7,8 unter Stickstoffatmosphäre mit 7% CO_2. Bei diesem pH-Wert lösen sich bei 20° C 98% des gasförmigen CO_2 in Wasser (BUCH, 1960). Der Autor hat keine photosynthetische CO_2-Assimilation gemessen, sondern den physikalischen Lösungsvorgang von CO_2 zu HCO_3^-. Bemerkenswert bleibt allein die Angabe, Algen könne man über Tage hinaus lebendig erhalten in einer Sulfidkonzentration, welche mehr als das zehnfache derjenigen beträgt, die nach NEGELEIN die Photosynthese zu 100% hemmt.

Außerdem wird über eine aus verschiedenen Volvocales bestehende Algengesellschaft berichtet, die ein H_2S-haltiges, organisch verunreinigtes Gewässer bewuchs (HANSEN u. GERLOFF, 1952).

Einen weiteren Hinweis, daß Schwefelwasserstoff möglicherweise in der Photosynthese nicht nur ein Gift ist, geben FRENKEL et al. (1949), indem sie berichten, daß an Wasserstoff adaptierte Blau- und Grünalgen zugegebenes Sulfid im Anschluß an eine Wasserstoffphotosynthese oxydieren, sobald man im Gasraum Wasserstoff durch Stickstoff ersetzt.

Interessant in diesem Zusammenhang ist ferner die Annahme von SCHATZ (1955), daß vielleicht bei einigen Moosen H_2S-reicher Standorte eine Photosynthese mit Schwefelwasserstoff stattfinden könnte.

Die Frage also, hat Schwefelwasserstoff in der Photosynthese der grünen Pflanzen tatsächlich nur eine Giftwirkung, oder kann er dort eine bisher nicht vollständig gedeutete Rolle spielen — besonders im Hinblick auf einen im Prinzip mehr oder weniger einheitlichen Photosyntheseablauf bei Bakterien und grünen Pflanzen —, war Ausgangspunkt unserer Untersuchungen.

II. Methodik

1. Versuchsobjekte und ihre Kultur

In erster Linie wurden einzellige Algen untersucht. Stämme der Gattungen *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus* und *Coelastrum* sowie *Chlamydomonas*, *Porphyridium* und *Anacystis* kommen aus der Algensammlung PRINGSHEIM, Göttingen. Eine *Chlorella pyrenoidosa* und drei ihrer Mutanten sowie ein Stamm von *Cyanidium caldarium* stammen aus der Sammlung von M. B. ALLEN, Bethesda, Md. Der ursprünglich von KRATZ und ALLEN isolierte Stamm einer *Anacystis nidulans* wurde freundlicherweise von Dr. G. RICHTER, Tübingen zur Verfügung gestellt. Reinkulturen von *Lemna* und *Spirodela* sind der Sammlung CZYGAN, Erlangen entnommen. Einen Überblick über die untersuchten Stämme gibt Tabelle 1.

Die Algen wurden unter Dauerlicht (2500 Lux) bei konstanter Temperatur von 20° C, *Anacystis* als einzige Ausnahme bei 2000 Lux und im konstant 40° C warmen Wasserbad in modifizierten Erlenmeyer-Kolben kultiviert. Die Kulturflüssigkeit durchperlte laufend keimfreie Luft mit einem Zusatz von 2% CO_2.

Die Nährlösung für *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus*, *Coelastrum* und *Chlamydomonas* hatte die bei KESSLER et al. (1963) angegebene Zusammensetzung. *Anacystis* wurde in dem von KRATZ u. MYERS (1955) beschriebenen Medium kultiviert (Lösung „D" mit Spurenelementlösung „A_5"). Die Zusammensetzung der anorganischen Nährlösung für *Porphyridium* findet sich bei BRODY u. EMERSON (1959). *Cyanidium* wuchs (bei 20° C) in der bei ALLEN (1959) genannten Kulturflüssigkeit. Die Mutanten der *Chlorella pyrenoidosa* aus der Sammlung ALLEN, Bethesda, Md. wurden in dem Nährmedium nach KESSLER et al. (1963) herangezogen, dem 0,2% Glucose zugesetzt war. Das Kulturmedium für *Lemna* und *Spirodela* ist das bei PIRSON u. SEIDEL (1950) angegebene.

2. Messung der Photosynthese und der Sulfidkonzentration

Die Photosynthesemessung erfolgte manometrisch in kegelförmigen Warburg-Gefäßen von etwa 14 ml Inhalt. Der Einfachheit halber wurde als Versuchsmedium

Tabelle 1

1. *Chlorella ellipsoidea* GERNECK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–1d
2. *Chlorella zofingiensis* DÖNZ, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–14
3. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–8b
4. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–8c
5. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–8e
6. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–11m+
7. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–11n+
8. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–15+
9. *Chlorella vulgaris* BEIJERINCK, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 211–8m+
10. *Ankistrodesmus braunii* (NÄGELI) BRUNNTHALER, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 202–7c
11. *Scenedesmus basiliensis* VISCHER, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 276–1
12. *Scenedesmus obliquus* (TURP.) KRÜG., Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 276–3c
13. *Scenedesmus obliquus* (GAFFRONs Stamm D_3), Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 276–6
14. *Coelastrum proboscideum* BOHLIN var. *dilatatum* VISCHER, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 217–2
15. *Chlamydomonas reinhardii* DANGEARD (Stamm +), Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 11–32a
16. *Chlamydomonas reinhardii* DANGEARD (Stamm −), Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 11–32b
17. *Porphyridium cruentum* (AG.) NAEGELI, Sammlung PRINGSHEIM, Nr. 1380–1c
18. *Anacystis nidulans* (RICHT.) DR., isoliert von KRATZ u. ALLEN
19. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung M. B. ALLEN, Nr. C–1.1.10
20. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung M. B. ALLEN, Nr. C–1.1.10.6.16.2
21. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung M. B. ALLEN, Nr. C–1.1.10.6.18.3.1
22. *Chlorella pyrenoidosa* CHICK, Sammlung M. B. ALLEN, Nr. C–1.1.10.31
23. *Cyanidium caldarium* GEITLER, Sammlung M. B. ALLEN, Nr. C–14.1.1
24. *Lemna minor* L., Sammlung CZYGAN, Stamm B
25. *Spirodela polyrhiza* (L.) SCHLEID., Sammlung CZYGAN, Stamm F_3

+ Vgl. KESSLER et al. (1963).

CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, pH 9,4 gewählt (10^{-1} m $NaHCO_3$ und 10^{-1} m Na_2CO_3 im Verhältnis 85:15 gemischt; = „Warburg-Puffer Nr. 9") (vgl. LORENZEN, 1958). Neben den eindeutigen Gaswechselvorgängen in diesem Medium ist außerdem der hohe pH-Wert von Vorteil. Er bedingt, daß das chemische Gleichgewicht zur Seite des Sulfids hin verschoben ist, so daß kein flüchtiges H_2S vorliegt. Die quantitative Messung des Sulfids nach unserer Methode wird dadurch sehr genau.

Manometer und Reaktionsgefäße wurden vor der Belichtung 15 min lang mit N_2 reinst der Fa. Linde, Nürnberg begast und anschließend 1 Std im Dunkeln geschüttelt. Im Dunkeln wurden aus der Ansatzbirne 0,3 ml in 1 m NaOH frisch gelöstes Natrium-Sulfid in die im Hauptraum des Gefäßes sich befindende Zellsuspension (5,7 ml) gekippt; der pH-Wert im Reaktionsgemisch war jetzt 10,2. Im Puffer befand sich damit eine Sulfidkonzentration von 10^{-3} m. Anschließend wurde sofort belichtet. (In Carbonatpuffer, unter Stickstoff und bei 20° C ist mit 4000 Lux bereits Lichtsättigung erreicht.)

Nach der Photosynthesemessung erfolgte die Bestimmung des im Reaktionsmedium verbliebenen Sulfids. Dazu wurden die 6 ml Zellsuspension im Reaktionsgefäß mit 6 ml 1 m NaOH versetzt und die Zellen aus der Mischung abzentrifugiert.

Im Überstand wurde das verbliebene Sulfid gemessen. Hierfür dienten 1 cm Küvetten zum Spektralphotometer PMQ II der Fa. Zeiss. Sie wurden mit 1 ml H_2O und mit 1 ml der Sulfidprobe (Überstand des Abzentrifugierten) beschickt. Die so vorbereiteten Küvetten brachten wir im Photometer in den Strahlengang von Licht der Wellenlänge 540 nm. Zur Sulfidprobe in der Küvette pipettierten wir 1 ml einer frisch bereiteten 0,6%igen wäßrigen Nitroprussid-Na-Lösung. Das Maximum des sich ausbildenden instabilen Farbkomplexes wurde an der Extinktionsskala des PMQ II abgelesen und mit Hilfe einer Eichkurve die in der Probe verbliebene Sulfidkonzentration festgestellt.

3. Kontrollversuche

Die Kontrollen enthielten abgekochte Zellen und unterschieden sich sonst durch nichts von den gleichzeitig präparierten Gefäßen mit lebendem Material.

Um zu kontrollieren, daß S^{--} durch die lebende Zelle und nicht etwa durch den Luftsauerstoff bzw. (unter N_2-Atmosphäre) durch den photosynthetisch entwickelten Sauerstoff oxydiert wird, wurden Kontrollversuche unter Luft durchgeführt. Nach 3 Std war bei unseren Versuchsbedingungen keine S^{--}-Oxydation feststellbar. Außerdem wird die Möglichkeit der S^{--}-Oxydation auf chemischem Wege durch photosynthetisch entwickelten Sauerstoff ausgeschlossen durch die Tatsache, daß erstens ein Zusatz von Salicylaldoxim die O_2-Produktion fast ganz unterbindet, die S^{--}-Oxydation aber merklich steigert (vgl. S. 179 dieses Bandes) und daß zweitens zu Zeiten „geringer Aktivität" (vgl. S. 82 dieses Bandes) trotz deutlicher O_2-Entwicklung u. U. überhaupt keine S^{--}-Oxydation abläuft.

4. Chemikalien

Bei Chemikalien, deren Herkunft nicht angegeben ist, handelt es sich um Präparate der Fa. E. Merck AG, Darmstadt mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse". Nitroprussid-Na „für Analyse" stammt wie das verwendete Sulfid von der Fa. Riedel-de Häen AG, Seelze-Hannover.

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Sulfid als Photosynthesegift; Sulfidoxydation

1925 fand Negelein die Giftwirkung von Schwefelwasserstoff auf die CO_2-Assimilation von *Chlorella;* eine Konzentration von 10^{-4} m H_2S hemmt die Photosynthese vollständig. 1955 lokalisierten Damaschke u. Rothbühr die Wirkung von Sulfid im Enzymsystem der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung. — Orientierende Voruntersuchungen zeigten uns, daß eine Sulfidkonzentration bis zu $1{,}0 \times 10^{-3}$ m die Photosynthese zwar vollkommen herabsetzt, daß diese Hemmwirkung aber im Verlauf von Stunden nachläßt und eine Erholung der Photosynthese eintritt. Sulfid verschwindet mit der Zeit im Versuchsmedium, und in dem Maße, in dem die Sulfidkonzentration abnimmt, steigt die photosynthetische Sauerstoffentwicklung. Sulfid wird also langsam von den lebenden Zellen oxydiert.

Diese Sulfidoxydation erfolgt in gleichem Maße unter Luft wie in Anaerobiose unter Stickstoff.

2. Sulfidoxydation in Abhängigkeit vom Licht und von der Lichtintensität

In Dunkelversuchen über 24 und 36 Std konnte keine Abnahme von Sulfid festgestellt werden. Somit handelt es sich dabei nicht um eine chemosynthetische Reaktion. Im Schwachlicht (300 Lux) zeigt sich eine Oxydation bereits deutlich und ist ab 4000 Lux in Carbonatpuffer durch größere Lichtgaben nicht mehr zu steigern.

3. Sulfidoxydation in Abhängigkeit vom CO_2-Gehalt

In Medien, die keinen assimilierbaren Kohlenstoff enthielten, war es nicht möglich, eine Sulfidoxydation nachzuweisen. Zellen in carbonat-

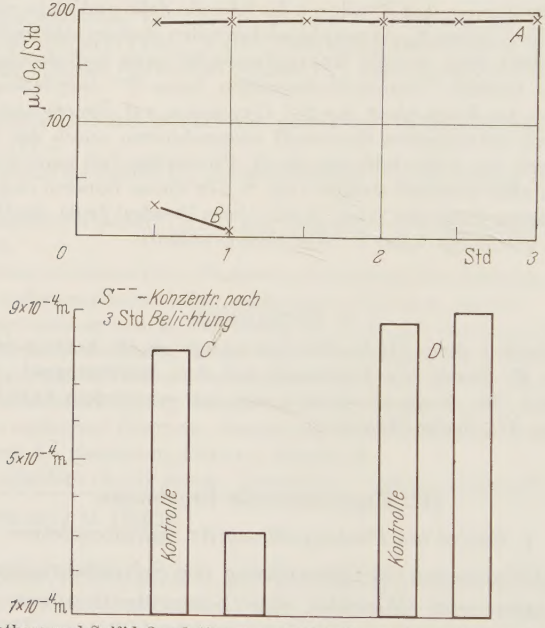

Abb. 1. Photosynthese und Sulfid-Oxydation von *Ankistrodesmus braunii* in CO_2-haltigem und CO_2-freiem Medium; 3,0 mg Trockensubstanz/Gefäß, 20°C, 4000 Lux, Gasphase N_2. *A* CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 9,2; *B* Tris-Puffer, 0,2 m, pH 9,2; *C* wie *A*, plus Na_2S in Glycerin gelöst, pH 9,2; *D* wie *B*, plus Na_2S in Glycerin gelöst, pH 9,2

freier Nährlösung, pH 7,1, waren wie solche in Phosphatpuffer, pH 7,1, nicht zur Sulfidoxydation befähigt. Zum gleichen Ergebnis kommt man, wenn mit Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (= Tris) gepuffert wird. Auch in Tris-Puffer verschiedener Ionenstärke (pH 6,0, 7,0, 8,0 und 10,0) war keine Sulfidoxydation möglich (Na_2S war in diesem Fall in Glycerin gelöst; vgl. HERZOG u. HANNER, 1928) (Abb. 1).

Mit nur geringem CO_2-Gehalt im Medium setzt Photosynthese und damit auch wieder Sulfidoxydation ein. Wir haben, während Manometer

und Gefäße geschüttelt wurden, 5 Sek. lang durch den Gasraum ein Gemisch aus Stickstoff und 5% CO_2 geschickt und unmittelbar im Anschluß daran mittels eines speziellen Zwei-Wege-Hahnes (Czako-Hahn) mit reinstem Stickstoff das CO_2 wieder ausgeblasen. So war es möglich, daß sich 5 Sek. lang etwas CO_2 in der geschüttelten Pufferflüssigkeit (Tris-Puffer, pH 9,2) löste. In diesem Medium war gegenüber Carbonatpuffer, pH 9,2, eine stark herabgesetzte Photosynthese zu verzeichnen, die wegen des geringen CO_2-Gehaltes während der drei Stunden Versuchsdauer merklich

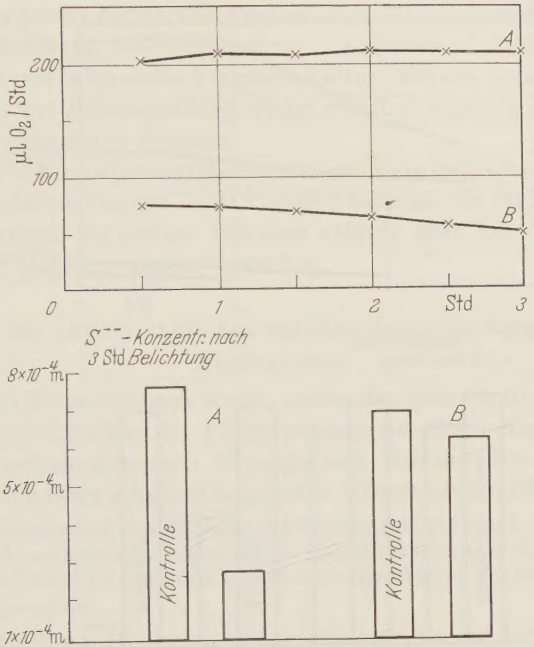

Abb. 2. Photosynthese und Sulfidoxydation von *Ankistrodesmus braunii* in Carbonat-Puffer und in fast CO_2-freiem organischem Puffer; 3,0 mg Trockensubstanz/Gefäß, 20°C, 4000 Lux. *A* CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 9,2, Gasphase N_2; *B* Tris-Puffer, 0,2 m, pH 9,2, Gasphase: 5 Sek. mit N_2 + 5% CO_2 begast, anschließend N_2-Anaerobiose

abnahm. Eine Sulfidoxydation war deutlich, aber im Vergleich zur Reaktion im Carbonatpuffer wie die Photosynthese stark vermindert (Abb. 2).

Es ergibt sich die Frage, ob zwischen Photosynthese und Sulfidoxydation weitere Parallelen bestehen.

4. Sulfidoxydation in Abhängigkeit von der Temperatur

Es ist bekannt, daß bei Lichtsättigung eine Temperaturerhöhung von 20 auf 30° C die Photosyntheseleistung beachtlich steigert, daß eine

Steigerung bei der gleichen Temperaturerhöhung im Schwachlicht aber kaum deutlich wird (STÅLFELT, 1960).

Die photosynthetische Leistung der Algen wird bei Lichtsättigung verdoppelt, erhöht man die Temperatur von 20 auf 30° C. Genauso verdoppelt wird unter diesen Umständen aber auch der Betrag der Sulfidoxydation. Vergleicht man mit diesem Ergebnis die Wirkung der Temperatursteigerung um 10° C im Schwachlicht bei 300 Lux, so zeigt sich eine

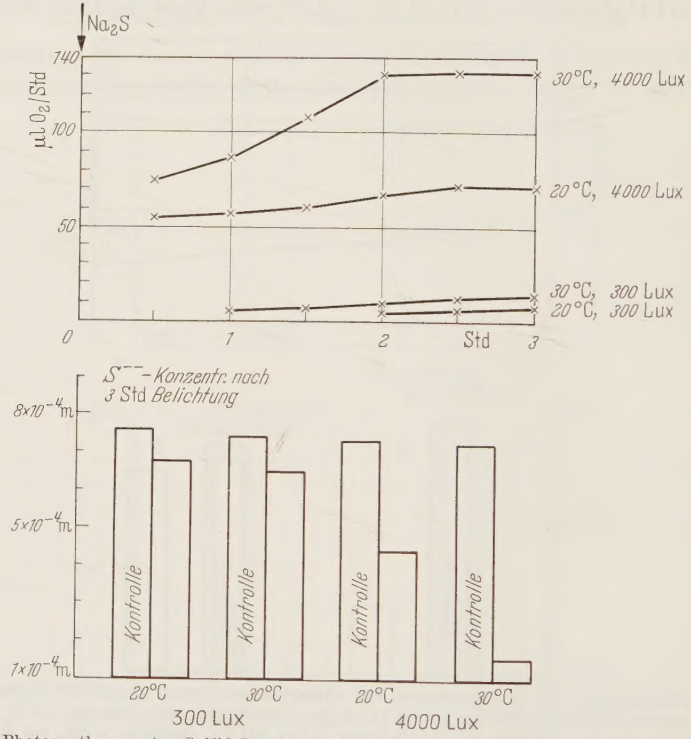

Abb. 3. Photosynthese unter Sulfid-Zusatz und Sulfid-Oxydation von *Ankistrodesmus braunii* in Abhängigkeit von der Temperatur bei Lichtsättigung (4000 Lux in Carbonat-Puffer) und im Schwachlicht (300 Lux); 3,0 mg Trockensubstanz/Gefäß, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, Gasphase N_2

vergleichsweise geringe Steigerung der ohnehin schwachen Photosynthese. Ebenso hat die Temperaturerhöhung einen kaum deutlichen Einfluß auf die Sulfidoxydation bei 300 Lux (Abb. 3).

5. *Einfluß einer herabgesetzten Photosynthese auf die Sulfidoxydation*

Zellen, die mehrere Stunden in Carbonatpuffer unter Stickstoff bei 10000 Lux assimiliert haben, zeigen anschließend eine verlangsamte Photosynthese. In dem Maße, in dem die Photosynthese durch diese Vorbehandlung geschwächt ist, ist auch die Sulfidoxydation vermindert.

6. Einfluß verschieden langer Vorbehandlung bei erhöhten Temperaturen auf die Sulfidoxydation

Erhitzt man *Ankistrodesmus* auf 60° C, so ist im anschließenden Experiment die photosynthetische Sauerstoffentwicklung (und damit *in vivo* die Photosynthese selbst) unterbunden. Gleichzeitig ist auch keine Sulfidoxydation mehr feststellbar.

Wir haben *Ankistrodesmus* 30 Sek. lang und während 1, 5 und 10 min bei 60° C in Carbonatpuffer gehalten. Die Fähigkeit zur Photosynthese und Sulfidoxydation hatten alle Proben nach anschließender zweitägiger Kultur in Nährlösung wiedergewonnen — und zwar in gleichem Umfang wie eine nicht vorbehandelte Vergleichskultur. Mit der erneut einsetzenden Fähigkeit zur Photosynthese erfolgt somit gleichzeitig die Erholung des Sulfid oxydierenden Systems.

Nach den bisher aufgezeigten Ergebnissen zu urteilen, kann es sich bei der Sulfidoxydation nur um einen Vorgang handeln, der im Mechanismus der Photosynthese der grünen Pflanzen abläuft. Man kann von „photosynthetischer Sulfidoxydation" sprechen.

7. Größe der photosynthetischen Sulfidoxydation im Vergleich zur Photosynthese

In unseren Experimenten wurde neben der photosynthetischen Sulfidoxydation gleichzeitig die Photosynthese derselben Algensuspension in Vergleichsproben gemessen. Es zeigte sich, daß die photosynthetische Sulfidoxydation etwa zehnmal langsamer abläuft als die Photosynthese.

Im Reaktionsgemisch zur Messung der Photosynthese befand sich ein gegenüber den Sulfid oxydierenden Algen auf die Hälfte verdünntes Zellgemisch; in Tabelle 2 sind die Photosynthesewerte auf die Trockensubstanz der Sulfid oxydierenden Algen umgerechnet.

Für jeweils 1 mg Trockensubstanz und bezogen auf 1 Std wurde die Anzahl oxydierter Sulfidmoleküle bestimmt, und aus den Werten der Photosynthese treibenden Proben die je mg Trockensubstanz und in 1 Std entwickelten Moleküle Sauerstoff ermittelt, die nach der Photosynthesegleichung

$$CO_2 + 4\,H_2O \rightarrow (CH_2O) + O_2 + 3\,H_2O$$

der Anzahl der reduzierten CO_2-Moleküle gleich sind.

Wie Tabelle 2 zeigt, wird von der gleichen Zellmasse und in der gleichen Zeit 1 Molekül S^{--} oxydiert, während in den Vergleichsproben etwa 10 bis 15 Moleküle O_2 entwickelt bzw. die gleiche Anzahl CO_2 Moleküle reduziert werden.

Diese Angaben stammen aus repräsentativen Ergebnissen zu Zeiten normaler Aktivität der photosynthetischen Sulfidoxydation. Die Intensität der Reaktionen aber ist nicht konstant.

Tabelle 2

Betrifft Experiment	Zellen von 1 mg Trockensubstanz		red. CO_2-Moleküle / oxyd. Sulfid-Moleküle
	oxydieren in 1 Std	reduzieren in 1 Std	
in Abb. 1 (*A* und *C*)	$2{,}0 \times 10^{17}$ Moleküle $S^=$	$3{,}3 \times 10^{18}$ Moleküle CO_2	16,5
in Abb. 3 (20° und 4000 Lux)	$1{,}2 \times 10^{17}$ Moleküle $S^=$	$1{,}1 \times 10^{18}$ Moleküle CO_2	9,2
in Abb. 3 (30° und 4000 Lux)	$2{,}4 \times 10^{17}$ Moleküle $S^=$	$2{,}2 \times 10^{18}$ Moleküle CO_2	9,2

8. Intensitätsschwankungen der Sulfidoxydation

Wir ziehen gleiches Zellmaterial im gleichen Medium bei konstanter Temperatur (20° C ± 1°) und unter konstanten Lichtverhältnissen seit zwei Jahren regelmäßig heran. Wird an stets gleichaltrigen Kulturen von *Ankistrodesmus braunii* (10 bis 14 Tage nach dem Animpfen) bei ebenso konstanten Bedingungen die Photosynthese und die photosynthetische Sulfidoxydation gemessen, so zeigen sich oft von einer Woche zur anderen recht erhebliche Aktivitätsunterschiede (Differenzen bis zu 50%). Diese bisher völlig unverstandenen Schwankungen[1] werden bei *Ankistrodesmus* überlagert von einer offenbar jahreszeitlich bedingten Aktivitätsänderung. — Von November 1963 bis März 1964 konnte bei Untersuchungen im Botanischen Institut der Universität Marburg eine deutlich herabgesetzte Aktivität der Sulfidoxydation gegenüber den anderen Monaten festgestellt werden. Das gleiche Ergebnis zeigte sich ein und zwei Jahre später zur gleichen Jahreszeit im Botanischen Institut der Universität Erlangen.

Ähnliche jahresperiodische Schwankungen von Enzymaktivitäten konnten erstmals für einzellige Grünalgen von KESSLER u. LANGNER (1962) bei einer *Chlorella pyrenoidosa* (Nr. 211—11 m der Algensammlung PRINGSHEIM, Göttingen; vgl. KESSLER et al., 1963) für das Enzym Hydrogenase gefunden werden. KESSLER u. CZYGAN (1963) sowie CZYGAN (1963) berichten von jahresperiodischen Schwankungen der Aktivität der Nitrat- und Nitritreduktion in dem auch von uns untersuchten *Ankistrodesmus braunii*.

Es sind Anzeichen dafür vorhanden, daß bei *Ankistrodesmus* eine sich über Monate erstreckende Kultur im Dauerlicht das Aktivitätsminimum der photosynthetischen Sulfidoxydation in den Wintermonaten auffängt. Jedenfalls zeigte sich bei diesem Organismus in den Wintermonaten 1964 und 1965 in Dauerlichtkulturen (Dauerlicht seit $^1/_2$ und seit $1^1/_2$ Jahren) eine etwa doppelt so große Aktivität wie bei Kulturen, die zu dieser Zeit als Schräg-Agar-Kulturen dem Tag-Nacht-Wechsel ausgesetzt waren. Diese Untersuchungen sind jedoch noch nicht abgeschlossen.

[1] Bei ähnlich kurzfristigen Unterschieden der Keimprozente verschiedener *Oenotheren*-Samen macht SCHWEMMLE (1963) auf parallel verlaufende Schwankungen der Sonnenfleckenhäufigkeit und der β-Gesamtaktivität der Luft aufmerksam.

9. Zur photosynthetischen Sulfidoxydation befähigte Organismen

Alle bisher untersuchten Organismen (Tabelle 1), die zur Photosynthese befähigt sind, können auch Sulfid photosynthetisch oxydieren. Dabei wurden neben einzelligen Blau-, Grün- und Rotalgen auch die für die Warburg-Manometrie geeigneten Blütenpflanzen *Lemna* und *Spirodela* getestet; sie können ebenfalls Sulfid oxydieren.

Die drei untersuchten Mutanten der *Chlorella pyrenoidosa* aus der Sammlung M. B. Allen, Bethesda, Md. haben nach mixotropher Anzucht in glucosehaltiger Nährlösung zunächst die Fähigkeit zur Photosynthese verloren und können somit vorerst kein Sulfid oxydieren. Überführt man die Zellen aus dem glucosehaltigen Medium für 24 Std in rein anorganische Nährlösung, so ist nach dieser Zeit die photosensitive Mutante C-1.1.10.6. 18.3.1 ebenso wie die „teilweise" photosensitive Mutante C-1.1.10.16.2 (Allen, 1963) wieder photosynthetisch aktiv und eine Sulfidoxydation ist möglich. Die chlorophyllfreie Mutante C-1.1.10.31 aber bleibt photosynthetisch inaktiv und zeigt unter keinen Umständen eine Oxydation von angebotenem Sulfid.

IV. Diskussion

Die seit 1924 bestehende Ansicht, Sulfid sei ein Photosynthesegift, muß bis zu einem gewissen Grade korrigiert werden. Die von Negelein (1925) gefundene Hemmung der Photosynthese an *Chlorella* mit 10^{-4} m Na_2S und die von Damaschke u. Rothbühr (1955) am gleichen Objekt beschriebene Vergiftung des Enzymsystems der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung durch Sulfid besteht in einer vorübergehend gehemmten Photosynthese, während der Sulfid bevorzugt oxydiert wird, bis nach erfolgter Aufoxydation wieder normale Photosynthese einsetzt. Sulfid ist dabei bis zu einer Konzentration von 10^{-3} m kein Enzymgift, das photosynthetische Reaktionen irreversibel hemmt. Die schwermetallhaltigen Enzyme scheinen ausreichend geschützt zu sein.

Das Gesagte gilt allgemein bis zu einer Konzentration von 10^{-3} m. Vergleichend sei darauf verwiesen, daß es Stoffe gibt, die photosynthetische Reaktion in einer Konzentration von 10^{-7} m hemmen (Arnon et al., 1965). Dennoch ist die hier verwandte Sulfidkonzentration von umgerechnet 2×10^{-6} Molen für Zellen von 1 mg Trockensubstanz auch für andere Lebensvorgänge nicht giftig. Das zeigt das Bakterium *Escherichia coli*, welches optimal 10^{-6} Mole H_2S berechnet je mg Trockensubstanz produziert (Desnuelle, 1939a, b; Desnuelle et al., 1939).

Bei der beschriebenen Oxydation des Sulfids handelt es sich um einen Vorgang, der im Mechanismus der Photosynthese ablaufen muß. Alle bisher geprüften photosynthetisch aktiven Organismen haben diese Fähigkeit; sie können Sulfid oxydieren, sobald sie Photosynthese treiben. Nicht mehr zur Photosynthese befähigte Mutanten haben auch die Fähigkeit zur Sulfidoxydation verloren. Die Veränderungen äußerer Faktoren,

soweit sie bei unseren Untersuchungen Anwendung fanden, haben bei Photosynthese und Sulfidoxydation qualitativ und quantitativ gleiche Änderungen im Reaktionsablauf zur Folge. Die Bezeichnung „photosynthetische Sulfidoxydation grüner Pflanzen" hat damit ihre Berechtigung.

Der Umsatz des angebotenen Sulfids im Photosyntheseablauf ist vergleichsweise gering. Auf 10 bis 15 reduzierte Moleküle CO_2 (bzw. entwickelte Moleküle O_2) kommt nur ein Molekül oxydiertes Sulfid. Daraus folgt, daß es sich bei dieser Reaktion mit aller Wahrscheinlichkeit um keine „Photoreduktion" handelt, wie sie FRENKEL et al. (1949) beschreiben; dort wurden nach entsprechender Vorbehandlung (s. Einleitung) je Molekül reduziertes CO_2 zwei Moleküle Sulfid oxydiert.

Die photosynthetische Sulfidoxydation erweist sich somit als eine Reaktion, die sowohl in der bakteriellen Photosynthese als auch in derjenigen grüner Pflanzen eine Rolle spielt. Sulfid als notwendiger Bestandteil bakterieller Photosynthese findet sich auch als möglicher Reaktionspartner im Photosyntheseablauf grüner Pflanzen.

Zusammenfassung

1. Die Tatsache, daß Sulfid bei der Bakterien-Photosynthese einen essentiellen Elektronendonator darstellt, andererseits (wie seit über 40 Jahren bekannt) ein Photosynthesegift grüner Pflanzen sein soll, war neben Hinweisen und anderslautenden Vermutungen aus der Literatur Ausgangspunkt der Untersuchungen.

2. Es wird eine einfache und schnelle Methode zur quantitativen S^{--}-Bestimmung beschrieben.

3. Die getesteten Objekte waren einzellige Blau-, Grün- und Rotalgen sowie die Blütenpflanzen *Lemna* und *Spirodela*. Alle geprüften photosynthetisch aktiven Organismen waren zu einer S^{--}-Oxydation befähigt, die a) nur im Licht möglich ist; b) einen CO_2-Gehalt des Mediums voraussetzt; c) temperaturabhängig ist; d) bei erhöhter Photosynthese gesteigert und bei verminderter Photosynthese herabgesetzt ist; e) einer offenbar jahresperiodischen Rhythmik unterliegt.

4. Es handelt sich um einen photosynthetischen Vorgang („Photosynthetische Sulfidoxydation grüner Pflanzen"), wobei die S^{--}-Oxydation relativ langsam abläuft. 10 bis 15 Moleküle O_2 werden entwickelt, während ein Molekül S^{--} oxydiert wird.

Die Experimente wurden im Botanischen Institut der Universität Marburg begonnen. Herrn Professor Dr. E. KESSLER danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für seinen Rat während der Untersuchungen. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für Sachbeihilfen zu Dank verpflichtet.

Literatur

Allen, M. B.: Studies with *Cyanidium caldarium*, an anamalously pigmented chlorophyte. Arch. Mikrobiol. **32**, 270—277 (1959).

— Lists of cultures maintained by the laboratory of comparative biology, Kaiser Foundation Research Institute (hektographiert), 1963.

Arnon, D. I.: Conversion of light into chemical energy in photosynthesis. Nature (Lond.) **184**, 10—21 (1959).

— H. J. Tsujimoto, and B. D. McSwain: Photosynthetic phosphorylation and electron transport. Nature (Lond.) **207**, 1367—1372 (1965).

Brody, M., and R. Emerson: The effect of wavelength and intensity of light on the proportion of pigments in *Porphyridium cruentum*. Amer. J. Bot. **46**, 433—440 (1959).

Buch, K.: Dissoziation der Kohlensäure, Gleichgewichte und Puffersysteme. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (Ruhland, W., ed.), Bd. V/1, S. 1—11. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Czygan, F.-C.: Untersuchungen über die Nitratreduktion der Grünalge *Ankistrodesmus braunii* in vivo und in vitro. Planta (Berl.) **60**, 225—242 (1963).

Damaschke, K., u. L. Rothbühr: Die langsamste Dunkelreaktion der Photosynthese und der Einfluß von Giften auf diese, verfolgt durch elektrochemische Sauerstoffmessung. Biochem. Z. **327**, 39—61 (1955).

Desnuelle, P.: Degradation anaerobie de la L. cysteine par *B. coli*. II. Son rôle dans la degradation de la L. — cystine. Enzymologia **6**, 242—245 (1939a).

— Degradation anaerobie de la cysteine par *B. coli*. III. Specificite optique de la cysteinase. Enzymoligia **6**, 387—391 (1939b).

—, et C. Fromageot: La decomposition anaerobie de la cysteine par *Bacterium coli*. I. Existence d'une cysteinase ferment d'adaptation. Enzymologia **6**, 80—87 (1939).

Frenkel, A., H. Gaffron, and E. H. Battley: Photosynthesis and photoreduction by a species of blue-green algae. Biol Bull. **97**, 269 (1949).

Gaffron, H.: CO_2-reduction with molecular hydrogen in green algae. Amer. J. Bot. **27**, 273—283 (1940).

— Photosynthesis, photoreduction and dark reduction of CO_2 in certain algae. Biol. Rev. **19**, 1—20 (1944).

— van Niel's Theory: Thirty years after. Bacterial photosynthesis (H. Gest, A. San Pietro, L. P. Vernon, eds.), p. 3—14. Yellow Springs Ohio: The Antioch Press 1963.

Hansen, I., u. J. Gerloff: Beitrag zur Kenntnis einiger Volvocales. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 87—93 (1952).

Herzog, J., u. A. Hanner: Die chemischen und physikalischen Prüfungsmethoden des Deutschen Arzneibuches. 6. Ausgabe. Berlin: Springer 1928.

Kessler, E.: Biochemische Variabilität der Photosynthese: Photoreduktion und verwandte Photosynthesetypen. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (W. Ruhland, ed.), Bd. V/1, S. 951—965. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

— Hydrogenase und H_2-Stoffwechsel bei Algen. Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Algen, S. 92—101. Stuttgart: Gustav Fischer 1962.

—, and F.-C. Czygan: Seasonal changes in the nitrate-reducing activity of a green alga. Experientia (Basel) **19**, 89—90 (1963).

—, u. W. Langner: Jahresperiodische Aktivitätsschwankungen bei einer *Chlorella*. Naturwissenschaften **49**, 331—332 (1962).

— W. Langner, I. Ludewig u. H. Wiechmann: Bildung von Sekundär-Carotinoiden bei Stickstoffmangel und Hydrogenase-Aktivität als taxonomische Merkmale in der Gattung *Chlorella*. Studies on micro-algae and photosynthetic bacteria, p. 7—20. The University of Tokyo Press 1963.

Kratz, W. A., and J. Myers: Nutrition and growth of several blue-green algae. Amer. J. Bot. **42**, 282—287 (1955).

Lorenzen, H.: pH-Wert und Kohlenstoffversorgung bei Wachstum und Photosynthese von Grünalgen. Flora (Jena) **146**, 94—108 (1958).

Nakamura, H.: Über das Auftreten des S-Kügelchens im Zellinneren von einigen niederen Algen. Bot. Mag. (Tokyo) **51**, 529—533 (1937).

Negelein, H.: Über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf chemische Vorgänge in Zellen. Biochem. Z. **165**, 203—213 (1925).

Pirson, A., u. F. Seidel: Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von *Lemna minor* L. unter besonderer Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel. Planta (Berl.) **38**, 431—473 (1950).

Schatz, A.: Speculations on the ecology and photosynthesis of the "copper mosses". Bryologist **58**, 113—120 (1955).

Schwemmle, J. u. H. Fischer: Wodurch sind die großen Schwankungen bei der Keimung von *Oenotheren*-Samen bedingt? Ber. dtsch. bot. Ges. **76**, 147—153 (1963).

Stålfelt, M. G.: Temperatur. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (W. Ruhland, ed.), Bd. V/2, S. 100—117. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Stanier, R. Y.: Photosynthetic mechanisms in bacteria and plants: development of a unitary concept. Bact. Rev. **25**, 1—17 (1961).

Karl Knobloch
Botanisches Institut der Universität
852 Erlangen, Schloßgarten 4

Planta (Berl.) 70, 172—186 (1966)

PHOTOSYNTHETISCHE SULFIDOXYDATION GRÜNER PFLANZEN

II. Mitteilung

WIRKUNG VON STOFFWECHSELINHIBITOREN*

Karl Knobloch

Botanisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Eingegangen am 12. April 1966

* Abkürzungen: DCMU = 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff; CMU = 3-(p-Chlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff; CCP = Carbonyl-cyanid-phenylhydrazon; Chl a = Chlorophyll a; Cyt = Cytochrom; Fd = Ferredoxin.

PHOTOSYNTHETIC OXIDATION OF SULPHIDE BY GREEN PLANTS. II.

Summary. The photosynthetic oxidation of sulphide by green plants is inhibited by DCMU, o-phenanthroline and hydroxylamine. This means that reaction system II of photosynthesis is necessary for the oxidation reaction. — The powerful inhibitors of photophosphorylation, antimycin A and carbonyl-cyanide-phenylhydrazone, also depress the oxidation rate. This effect may be a secondary one, due to a diminished supply of necessary ATP.

Mn-deficiency in the organisms results in an increase of S^{--}-oxidation, indicating that S^{--} is oxidized by the (OH)-radicals involved in the O_2-evolving system of photosynthesis according to the following equation:

$$2(OH) + 2H^+ + S^{--} \rightarrow 2H^+ + 2OH^- + S^0.$$

Salicylaldoxime in rather high concentrations likewise stimulates the photosynthetic oxidation of sulphide. Concentrations that completely block photosynthetic electron flow also stop sulphide oxidation. On the other hand, concentrations of this inhibitor which only lower photosynthetic electron flow bring about a marked increase of sulphide oxidation. We interpret this effect according to the concept of two photochemical systems that interact in series in the following way: salicylaldoxime decreases electron flow between the two reaction systems; reaction system I now makes available electrons from the sulphide ion which can enter the remaining lowered photosynthetic electron flow.

Ferrous ions are necessary for this oxidation reaction and may take part in enzymatic reactions involved in this process.

I. Einleitung

Durch Aufklärung des Reaktionsweges vom CO_2 zum Zucker kennt man den Weg des Kohlenstoffs in der Photosynthese (Calvin, 1962). Intensive Bemühungen führten in den letzten Jahren zu Einblicken in den photochemischen Primärprozeß dieses Vorgangs (Clayton, 1965; Vernon u. Avron, 1965; Witt et al., 1965; Duysens, 1964; Trebst, 1964). Dabei konnten an Hand von Absorptionsänderungen zunächst Duysens et al. (1961), Kok u. Hoch (1961) und Witt et al. (1961a, b, c)

die Existenz von zwei photosynthetisch aktiven Pigmentsystemen nachweisen. Die zur Zeit am eingehendsten diskutierte Vorstellung von den Primärprozessen ist die, daß zwei Lichtreaktionen nacheinander ablaufen, wobei die beiden Systeme durch eine Elektronen-Transportkette miteinander verbunden sind (Abb. 6). In dieses sicher nicht endgültige Bild lassen sich die meisten der bisher bekannten Ergebnisse einbauen. Die sich darin spiegelnde Vorstellung geht auf die Entdeckung Emersons zurück (Emerson, 1957; Emerson et al., 1957), daß im langwelligen Rotlicht (für sich allein kaum noch photosynthetisch wirksam) ein Photosyntheseanstieg erfolgt, sobald kürzer welliges Rotlicht mit eingestrahlt wird. Doch gibt es auch Gründe, die gegen die Vorstellung der in Serie geschalteten Reaktionssysteme sprechen. Andere Vorschläge sind gemacht und diskutiert worden (Gaffron, 1962; Clayton, 1965).

Was die photosynthetische Sulfidoxydation betrifft, so interessiert, wo im Photosyntheseablauf die Oxydation erfolgt und welche Reaktionspartner beteiligt sein könnten. Durch Verminderung notwendiger Nährstoffe und durch Anwendung von Inhibitoren und Entkopplern wurde versucht, diese Frage zu klären.

II. Material und Methodik

1. Anzucht und Experimente

Die Anzucht der Versuchsobjekte und die Durchführung der Experimente ist auf S. 75—77 dieses Bandes beschrieben.

2. Chemikalien

Bei Chemikalien, deren Herkunft nicht angegeben ist, handelt es sich um Präparate der Fa. E. Merck AG, Darmstadt, mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse". Von Serva, Heidelberg bezogen wir Antimycin A „reinst", 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff (DCMU) und Carbonyl-cyanid-m-chlorphenylhydrazon (m-Cl-CCP). DCMU wurde für die Versuche mehrmals aus Äthanol umkristallisiert.

3. Reagentien

Nicht beschriebene Reagentien bestehen aus den in destilliertem Wasser gelösten Chemikalien. — DCMU und o-Phenanthrolin wurden in 20 ml Äthanol gelöst und die Lösung mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt. — Antimycin A und Salicylaldoxim lösten wir in der gerade notwendigen Menge Äthanol und verdünnten mit dest. Wasser bis zur gewünschten Konzentration. — CCP wurde in einer gerade ausreichend starken Natronlauge in Lösung gebracht.

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Wirkung von DCMU, o-Phenanthrolin und Hydroxylamin

Wessels (1956) fand die erstaunlich starke Hemmwirkung substituierter Phenylurethane auf die Photosynthese. Dabei zeigte sich, daß 2×10^{-7} m DCMU die Hill-Reaktion isolierter Chloroplasten zu 50% hemmt. Die Wirksamkeit dieser geringen Konzentration läßt vermuten,

daß es sich hier um einen Stoff handelt, der spezifisch eine einzige Reaktion blockiert. Damit wirkt DCMU in einer Verdünnung, bei der ein Molekül dieser Substanz auf 200 Chlorophyllmoleküle kommt (Clayton, 1965).

Die photosynthetische Sulfidoxydation wird wie die Photosynthese in einzelligen Grünalgen durch 5×10^{-7} m DCMU zu 50% gehemmt; eine Konzentration von 5×10^{-6} m hemmt völlig (Abb. 1).

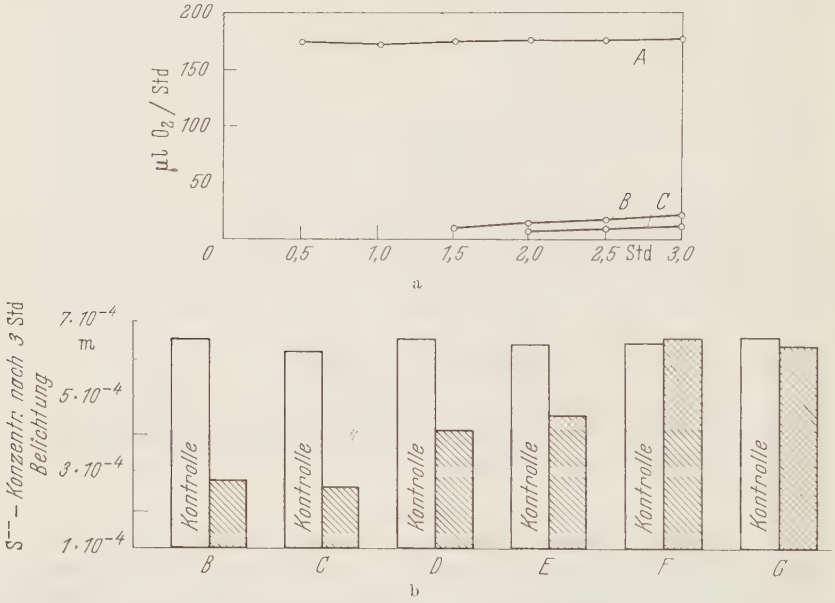

Abb. 1 a u. b. Hemmung der Photosynthese und der photosynthetischen S^{--}-Oxydation durch verschiedene Konzentrationen von DCMU. *Ankistrodesmus braunii*, 3,5 mg Trockensubstanz/Gefäß, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, 20° C, 4000 Lux, Gasphase N_2, DCMU-Zusatz 1 Std vor Belichtung, S^{--} unmittelbar vor Belichtung zugegeben. *A* Zellen ohne S^{--}-Zusatz; *B* + S^{--}; *C* + S^{--} + $2{,}5 \times 10^{-7}$ m DCMU; *D* + S^{--} + $5{,}0 \times 10^{-7}$ m DCMU; *E* + S^{--} + $1{,}0 \times 10^{-6}$ m DCMU; *F* + S^{--} + $5{,}0 \times 10^{-6}$ m DCMU; *G* + S^{--} + $1{,}0 \times 10^{-5}$ m DCMU

Da DCMU spezifisch im Reaktionssystem II (Terminologie nach Duysens) eingreift (Abb. 6, 7) (Witt et al., 1965; Gingras u. Lemasson, 1965), bedeutet dieser Befund, daß für die Sulfidoxydation *in vivo* das intakte System II Voraussetzung ist.

Von DCMU bzw. CMU nimmt man an, daß die Substanz bereits den Elektronen-Schub aus dem Chlorophyll-Molekül heraus (Bertsch et al., 1963) verhindert. Wenn auch Duysens (1963, besonders pp. 90 bis 91; 1964) hiervon abweichend den Eingriff von DCMU außerhalb des Systems II in der Elektronentransportkette vor dem dort beteiligten Cytochrom b sieht, so ist man sich doch einig darüber, daß DCMU keinesfalls das System I beeinflußt (Abb. 7). Das gleiche gilt für o-Phen-

anthrolin und Hydroxylamin. Die drei Substanzen zeigen auch sonst ähnliche bis gleiche Wirkungen.

So hemmen sie nicht die in H_2-adaptierten Algen ablaufende Wasserstoff-Photosynthese („Photoreduktion"), sondern schützen sie gegen die bei höheren Lichtintensitäten eintretende „Deadaptation" und stabilisieren so den Vorgang (Bishop, 1962; Kessler, 1960). Bishop u. Gaffron (1962) zeigten, daß für die Wasserstoff-Photosynthese in Grünalgen nur Reaktionssystem I notwendig ist.

DCMU, o-Phenanthrolin und Hydroxylamin wirken also insofern gleich, als sie auf Reaktionssystem I keinen Einfluß haben und mehr oder weniger direkt System II hemmen. Wie DCMU verhindern auch o-Phenanthrolin und Hydroxylamin die photosynthetische Sulfidoxydation. Die Konzentration von 1×10^{-3} m o-Phenanthrolin bewirkt völlige Hemmung und 2×10^{-4} m Hydroxylamin läßt ebenfalls keine Sulfidoxydation mehr aufkommen. Freilich ist mit dem gehemmten System II der ganze Photosynthesevorgang *in vivo* unterbunden, und deshalb besagt die Tatsache, daß DCMU, o-Phenanthrolin und Hydroxylamin die Sulfidoxydation hemmen nichts weiter, als daß der Vorgang der S^{--}-Oxydation abhängig vom intakten Photosynthese-Mechanismus ist.

2. Wirkung von Antimycin A

Dieses Antibioticum hemmt Phosphorylierungen in sehr geringen Konzentrationen. 6.7×10^{-7} m vermindern z. B. die Atmung der Mitochondrien aus Rattenleber zu 90% (Walter u. Lardy, 1964). Etwa die gleiche Konzentration (4×10^{-7} m) hemmt in Thylakoidfraktionen von *Rhodospirillum* zu 93% die Photo-Phosphorylierung (Frenkel 1959). Nach Arnon unterbindet Antimycin A (10 µg/4,5 ml = 4×10^{-6} m) in isolierten Chloroplasten weitgehend die Ferredoxin-katalysierte, anaerob verlaufende cyclische Photosynthese-Phosphorylierung (Tagawa et al., 1963). Mit Ausnahme dieses speziellen, *in vitro* mit zusätzlichem Ferredoxin ermöglichten Elektronen-Flusses ist Antimycin aber ohne Einfluß auf den Elektronen-Transport der Photosynthese in Chloroplasten (Losada u. Arnon, 1963). So wird auch die Hill-Reaktion nicht durch Antimycin gehemmt (Whatley et al., 1959); dabei soll diese Tatsache unter dem Aspekt gesehen werden, daß manche Hill-Reagentien von Elektronen aus dem Reaktionssystem I und andere von Elektronen aus dem System II reduziert werden (Rumberg et al., 1963; vgl. Vernon u. Avron, 1965). System I und II sind demnach durch Antimycin nicht zu beeinflussen.

Über Experimente mit Antimycin an *Ankistrodesmus* berichten Urbach u. Simonis (1964) sowie Simonis (1964). Eine Konzentration von (umgerechnet) 8.1×10^{-5} m setzt während 5 min die ^{32}P-Einlagerung im Licht „fast nicht" herab (Simonis, 1964). Doch hemmt Antimycin *in vivo* eine gegenüber DCMU noch resistente Photo-Phosphorylierung (Urbach u. Simonis, 1964; vgl. Trebst, 1964). Eine genaue

Vorstellung vom Reaktionsort des Antimycins geben Dilley u. Vernon (1964a). Auf Grund ihrer Ergebnisse an Chloroplasten mit 5×10^{-5} m Antimycin wird gefolgert, daß vor der ATP-Bildung ein energiereiches, noch nicht phosphoryliertes Zwischenprodukt existiert; Antimycin hat keinen Einfluß auf die Ausbildung dieses energiereichen Zwischenproduktes, hemmt aber den Übergang von dort auf die ATP-Bildung aus ADP und Phosphat (Dilley u. Vernon, 1964b). Der Reaktionsort

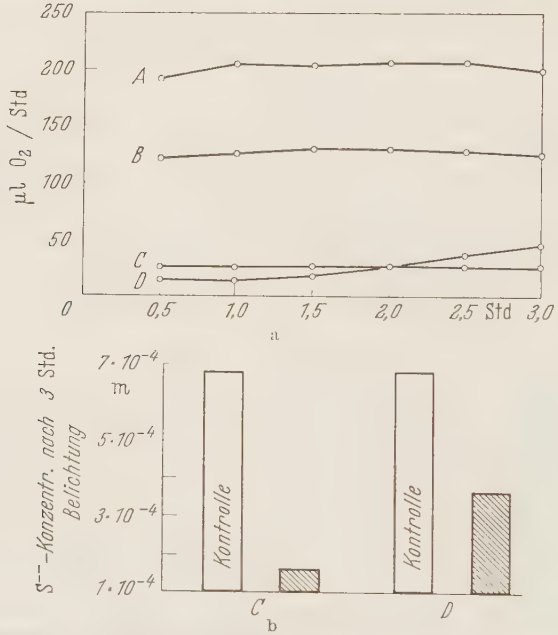

Abb. 2a u. b. Wirkung von Antimycin A auf Photosynthese und photosynthetische S^{--}-Oxydation. *Ankistrodesmus braunii*, 3,0 mg Trockensubstanz, Gefäß, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, 20° C, 4000 Lux, Gasphase N_2. *A* Zellen ohne S^{--}; *B* ohne S^{--} + 1×10^{-4} m Antimycin A; *C* + S^{--}; *D* + S^{--} + 1×10^{-4} m Antimycin A

von Antimycin liegt somit zwischen den Reaktionssystemen und außerhalb des Elektronen-Flusses vor der Phosphorylierungsstelle (Abb. 7). Antimycin wird den Photosyntheseablauf deshalb nur indirekt beeinflussen, indem die gehemmte ATP-Bildung zur Geschwindigkeit bestimmenden Reaktion wird.

Wir prüften den Einfluß von 1×10^{-4} m Antimycin auf Photosynthese und Sulfidoxydation in *Ankistrodesmus* und fanden, daß über Stunden eine deutlich herabgesetzte Photosynthese zu beobachten war. Die Sulfidoxydation wurde ebenfalls durch Antimycin gehemmt (Abb. 2).

Es muß dabei berücksichtigt werden, daß Antimycin A extrem empfindlich gegen Alkalien ist. Das Molekül zerfällt in dem Fall in N-Formylantimycinsäure und Antimycinlacton. Die Hemmwirkung in unseren Experimenten wird demnach den Teilstücken zukommen.

3. Wirkung von CCP

CCP und Derivate wurden von Heytler u. Prichard (1962) als außerordentlich aktive Phosphorylierungsgifte erkannt. Neben der Hemmung der oxydativen Phosphorylierung in Mitochondrien sind diese Substanzen auch gegen die Photo-Phosphorylierung in Chloroplasten wirksam (Heytler, 1963). Ebenso wie Antimycin hemmt CCP nicht die Hill-Reaktion (Bishop u. Gaffron, 1963). Vernons genaue Vorstellung

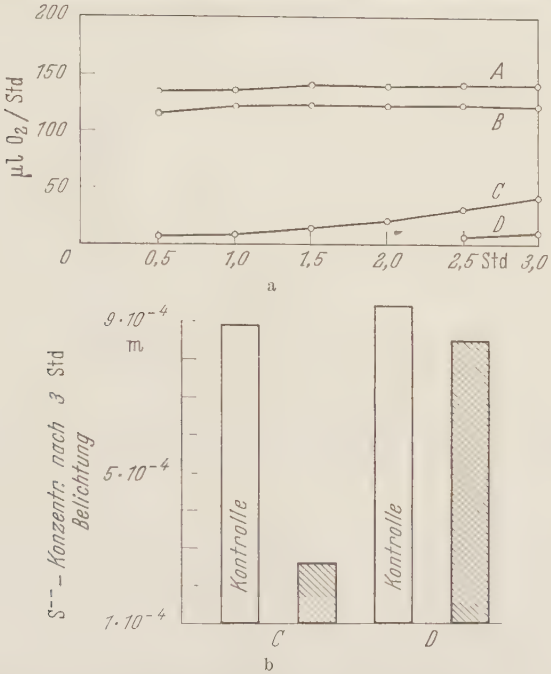

Abb. 3 a u. b. Einfluß von m-Cl-CCP auf Photosynthese und photosynthetische Sulfidoxydation. *Ankistrodesmus braunii*, 2,9 mg Trockensubstanz/Gefäß, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, 20° C, 5000 Lux. *A* Zellen ohne S^{--}; *B* $+1 \times 10^{-5}$ m m-Cl-CCP; *C* $+S^{--}$; *D* $+S^{--}+1 \times 10^{-5}$ m m-Cl-CCP

(Dilley u. Vernon, 1964a, b; Vernon, 1965) über den Eingriff von Antimycin ist an vergleichenden Untersuchungen mit CCP gewonnen worden. Danach greift auch CCP als Phosphorylierungsgift und damit als Entkoppler des Elektronenflusses nicht direkt in den photosynthetischen Elektronentransport ein, sondern verhindert die Bildung des energiereichen Zwischenproduktes („conformational change"), das mit der ATP-Bildung verknüpft ist (Abb. 7).

In *Ankistrodesmus* bewirkt m-Cl-CCP in einer Konzentration von 1×10^{-5} m eine Herabsetzung der Sulfidoxydation. Nach 3 Std ist die Hemmung sehr deutlich. Dagegen war während der gesamten Versuchsdauer die photosynthetische Sauerstoffentwicklung vergleichsweise nur

wenig vermindert (Abb. 3). Die Wirkung von CCP auf photosynthetische Reaktionen ist damit im wesentlichen die gleiche wie die von Antimycin.

4. Wirkung von Mangan-Mangel

Pirson (1937) stellte fest, daß Mangan bei der Photosynthese beteiligt ist. Unter Mn-Mangel gewachsene Zellen zeigen eine stark verminderte CO_2-Assimilation, die durch einen Mn-Zusatz relativ schnell gesteigert werden kann. Auch die Hill-Reaktion ist bei Mn-Mangel stark herabgesetzt und kann durch Mn-Gaben wieder erhöht werden (Eyster

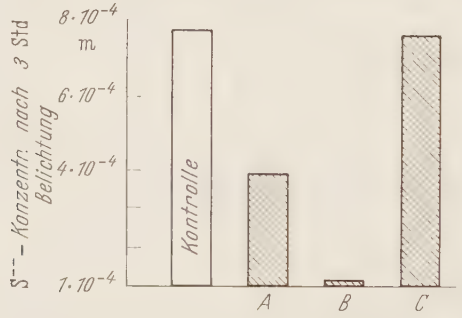

Abb. 4. Photosynthetische S^{--}-Oxydation einer normalen Algenkultur im Vergleich mit einer Mn-Mangel- und einer Fe-Mangel-Kultur. *Ankistrodesmus braunii*, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, 20° C, 4000 Lux. *A* Normale Zellen, Trockensubstanz 3,2 mg/Gef.; *B* Mn-Mangel-Zellen, Trockensubstanz 3,3 mg/Gef.; *C* Fe-Mangel-Zellen, Trockensubstanz 3,4 mg/Gef.

et al., 1956). Durch vergleichende Untersuchungen über Photosynthese und Wasserstoff-Photosynthese an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen konnte Kessler (1957, 1960) zeigen, daß Mangan spezifisch im Sauerstoff entwickelnden System der Photosynthese beteiligt ist. Die Wirkung von Mn-Mangel ist in allen wesentlichen Punkten gleich der Wirkung von o-Phenanthrolin, Hydroxylamin (Kessler, 1957) und DCMU (Bishop, 1958). Dieser Mn-Mangeleffekt findet sich offenbar bei allen grünen Pflanzen (Brown et al., 1958).

Photosynthetische Bakterien (*Rhodopseudomonas spheroides*), die keinen Sauerstoff entwickeln, haben einen äußerst geringen Mn-Bedarf; $^1/_{100}$ bis $^1/_{1000}$ der für *Chlorella* notwendigen Mn-Menge ist ausreichend (Wiessner, 1960). Einen hohen Mn-Bedarf hat demgegenüber die strikt photoautotrophe Blaualge *Anacystis nidulans* (Richter, 1961).

Unsere Untersuchungen mit Mn-Mangel-Kulturen von *Ankistrodesmus* über die photosynthetische Sulfidoxydation brachten ein zunächst überraschendes Ergebnis. Da Mn-Mangel in bisher sämtlichen getesteten Reaktionen die gleiche Wirkung hatte wie ein Zusatz von DCMU, o-Phenanthrolin und Hydroxylamin, war es überraschend festzustellen, daß der Mangelzustand die photosynthetische Sulfidoxydation steigert (Abb. 4). Doch ist Mangan offenbar Bestandteil der „OH-Enzyme“

(Franck, 1960), der Enzyme also, die das Radikal (OH) der Wasserspaltung weiter verarbeiten bis zur Sauerstoff-Freisetzung. Es besteht deshalb die Möglichkeit, daß bei Mn-Mangel (mit herabgesetzter photosynthetischer Sauerstoff-Entwicklung) das Radikal (OH) angehäuft wird und von diesem die Elektronen des Sulfidions übernommen werden. Die Sulfidoxydation würde in dem Fall so verlaufen:

$$2\,(OH) + 2\,H^+ + S^{--} \rightarrow 2\,H^+ + 2\,OH^- + S^0.$$

5. Wirkung von Salicylaldoxim

Wie Mn-Mangel so fördert auch ein Zusatz von Salicylaldoxim die photosynthetische Sulfidoxydation. — Doch ist Salicylaldoxim wie andere Cu-Komplexbildner ein Hemmstoff der Photosynthese. Diese Photosynthese-Hemmung ist nach Green et al. (1939) in *Chlorella* reversibel. Daß ein Cu-Protein in Chloroplasten (Spinat) existiert, ist seit Arnon (1949) bekannt. Katoh (1960) isolierte aus *Chlorella* einen Cu-Protein-Komplex und nannte den Stoff „Plastocyanin" (Katoh u. Takamiya, 1961). Trebst (1963; Trebst et al., 1963; 1964) hat die Rolle von Salicylaldoxim in der Photosynthese eingehend geprüft. Wie sich zeigte, hemmt die außerordentlich hohe Konzentration von 1×10^{-2} m in isolierten Chloroplasten die photosynthetische Sauerstoff-Entwicklung und die cyclische Photo-Phosphorylierung (letztere ist *in vitro* durch DCMU nicht gehemmt); doch ist *in vitro* trotz 10^{-2} m Salicylaldoxim eine Reduktion von NADP mit geeigneten Elektronen-Donatoren noch möglich (Trebst, 1963). Untersuchungen an *Ulva lactuca* über die durch Licht induzierte Cytochrom-Oxydation haben gezeigt, daß diese durch 10^{-2} m Salicylaldoxim nicht beeinflußt wird. Dagegen wird die von System II ausgehende Reduktion des Cytochrom f durch Salicylaldoxim gehemmt (Fork u. Urbach, 1965). Daraus ist zu schließen, daß der Reaktionsort von Salicylaldoxim in der Elektronen-Transportkette zwischen den beiden Reaktionssystemen und zwar noch vor dem Cytochrom f liegen muß (Abb. 7).

Wir prüften die Wirkung von Salicylaldoxim auf Photosynthese und Sulfidoxydation in *Ankistrodesmus* und *Chlorella*. Eine Konzentration von 10^{-2} m bewirkt eine Photosynthese-Hemmung um 30%, die von 5×10^{-2} m hemmt zu 80% (Abb. 5). 10^{-1} m Salicylaldoxim läßt keine Photosynthese mehr aufkommen. — Was die Sulfidoxydation betrifft, so wird diese gesteigert durch Konzentration bis 5×10^{-2} m. 10^{-1} m Salicylaldoxim macht auch die Sulfidoxydation unmöglich.

Die in dieser Höhe notwendigen Konzentrationen sind bedenklich, doch haben die bisherigen Untersuchungen (Trebst, 1963; Fork u. Urbach, 1965) ergeben, daß Salicylaldoxim in einer Konzentration von 10^{-2} m spezifisch in den photosynthetischen Elektronen-Transport eingreift. Außerdem wird bei Anwendung niedrigerer Konzentrationen

(10^{-3} m) und mit Luft als Gasphase Salicylaldoxim hydrolysiert und damit sogar zum Cofaktor einer Photo-Phosphorylierung (Trebst, 1963). Auch zeigt die gleiche Konzentration (10^{-2} m) eine Hemmung der Hill-Reaktion (mit Ferricyanid) in lyophilisierten Blaualgen-Zellen ebenso wie in isolierten Chloroplasten (Gerhardt u. Trebst, 1965).

Interessant ist in diesem Zusammenhang noch die Funktion von Salicylaldoxim im Schwefel-Stoffwechsel eines Cu-resistenten Hefestammes. Dort hemmt 10^{-2} m Salicylaldoxim die Bildung von S^{--} aus SO_3^{--} (Kikuchi, 1965a).

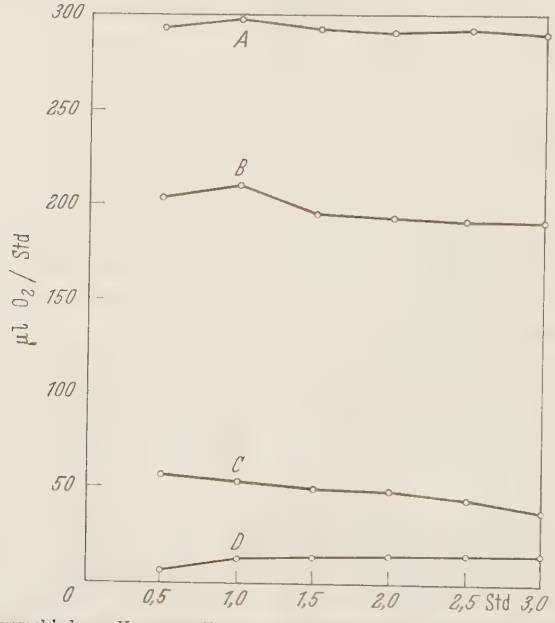

Abb. 5. Einfluß verschiedener Konzentrationen von Salicylaldoxim auf die Photosynthese. *Ankistrodesmus braunii*, 3,0 mg Trockensubstanz, Gefäß, CO_3^{--}-HCO_3^--Puffer, 0,1 m, pH 10,2, 20° C, 4000 Lux. *A* Zellen ohne Zusatz; *B* $+1 \times 10^{-2}$ m Salicylaldoxim; *C* $+5 \times 10^{-2}$ m Salicylaldoxim; *D* $+1 \times 10^{-3}$ m S^{--}; Zellen $+1 \times 10^{-1}$ m Salicylaldoxim zeigen keine O_2-Entwicklung mehr

6. Wirkung von Eisenmangel

Seit den Untersuchungen von Emerson (1929) ist bekannt, daß Fe-Mangel zu einer Photosynthese-Hemmung führt. Kessler (1957) weist darauf hin, daß die Hemmung durch Fe-Mangel bei der Wasserstoff-Photosynthese in Grünalgen noch viel stärker zum Ausdruck kommt. Und Pirson et al. (1952) berichten, daß bei einer durch Fe-Mangel geschwächten Photosynthese keine kurzfristige Reversibilität durch Fe-Zusatz besteht.

Ankistrodesmus, der in einer an Eisen armen Nährlösung ($^1/_{100}$ des normalen Fe-Gehaltes) herangezogen wurde, zeigt eine äußerst geringe, in den meisten Fällen gar keine photosynthetische Sulfidoxydation mehr (Abb. 4).

Es ist nicht anzunehmen, daß Eisen in der betreffenden Konzentration eine Rolle im photosynthetischen Primärprozeß spielt, und so wird man auch die Rolle des Eisens in der photosynthetischen Sulfidoxydation in enzymatisch verlaufenden Reaktionen suchen müssen.

Im Schwefel-Stoffwechsel von Hefen spielt Eisen auch eine Rolle. Fe-Mangel führt dort zu einer bemerkenswerten Verminderung der S^{--}-Bildung aus SO_3^{--} (KIKUCHI, 1965b).

IV. Diskussion

Die Hemmung der Sulfidoxydation im Licht durch DCMU besagt lediglich, daß es sich um einen photosynthetischen Vorgang handelt.

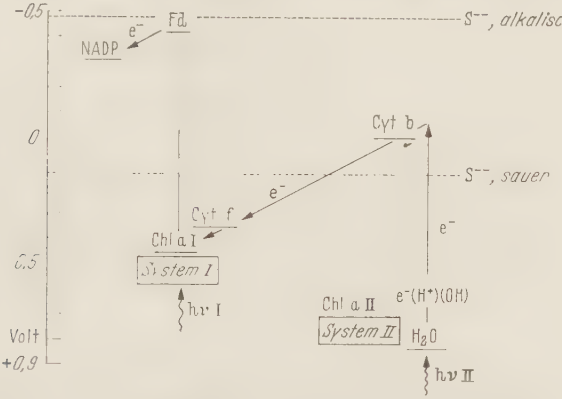

Abb. 6. Das zur Zeit am häufigsten diskutierte Schema der photosynthetischen Primärprozesse, modifiziert nach WITT et al. (1965); Redox-Potentiale für S^{--} nach PARSONS (1959)

Die Beeinflussung der Reaktion durch die Phosphorylierungsgifte Antimycin und CCP muß als eine sekundäre Wirkung betrachtet werden, indem primär die Photosynthese durch ATP-Mangel herabgesetzt ist. — Deutlichere Hinweise bezüglich des Ortes der Sulfidoxydation im Photosyntheseablauf erhält man mit Änderung der Reaktionsbedingungen durch Mangan-Mangel und durch Zusatz von Salicylaldoxim.

Die Steigerung der Reaktion durch Mn-Mangel macht wahrscheinlich, daß die Sulfidoxydation im Sauerstoff entwicklenden System der Photosynthese abläuft. Als Oxydationsmittel kommt hier das Radikal (OH) in Frage. Und der Bedarf der Sulfidoxydation an Eisen läßt an ein eisenhaltiges Enzym denken, das die Oxydation katalysiert (Abb. 7).

Salicylaldoxim hat auf Sulfidoxydation und Photosynthese die gleiche Wirkung wie Mn-Mangel. In beiden Fällen wird die Photosynthese gehemmt und die Sulfidoxydation gesteigert. Doch muß die Reaktion von Salicylaldoxim im Photosyntheseablauf an einer Stelle erfolgen, die keinesfalls mit dem Ort der Wirkung von Mn-Mangel im O_2-freisetzenden System II zusammenfällt. Während beispielsweise Mn-Mangel die

Wasserstoff-Photosynthese adaptierter Grünalgen nicht beeinflußt (Kessler, 1957), wird diese — das zeigen unsere Experimente — durch Salicylaldoxim gehemmt. Außerdem liegt den Untersuchungen von Trebst (1964) und Fork u. Urbach (1965) zu Folge die Reaktionsstelle von Salicylaldoxim im Elektronentransport zwischen beiden Reaktionssystemen vor dem Cytochrom f. Vorausgesetzt, die Wirkung von Salicylaldoxim in der Zelle ist auf eine komplexe Bindung des Kupfers zurückzuführen, so muß berücksichtigt werden, daß Bishop (1964) bei Cu-Mangel eine Hemmung der Photosynthese und Wasserstoff-Photosynthese fand, die auf eine Beeinflussung von System I zurückzuführen

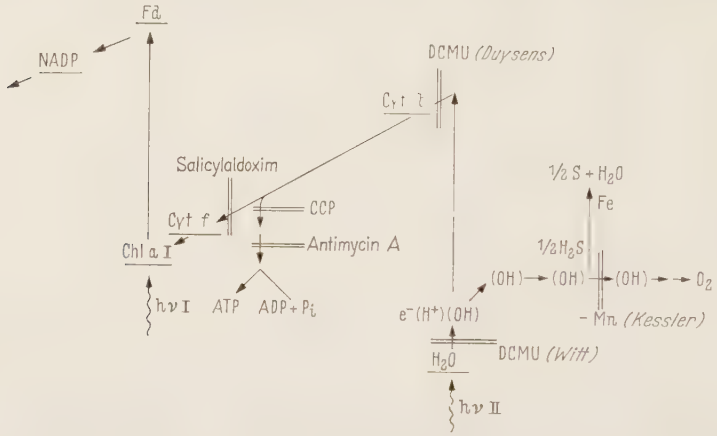

Abb. 7. Photosynthese-Schema mit Lokalisation von Mn-Mangel-Wirkung (Kessler, 1957), DCMU-Block (Witt et al., 1965; Duysens, 1963), CCP- und Antimycin A-Wirkung (Dilley u. Vernon, 1964a, b; Vernon, 1965) und Salicylaldoxim-Eingriff (Trebst, 1963; Fork u. Urbach, 1965)

ist. Salicylaldoxim greift also nahe System I ein, während Mn-Mangel allein System II betrifft.

Es muß deshalb — nur unter der Voraussetzung der Richtigkeit des zugrunde gelegten Photosynthese-Schemas — mit der Möglichkeit von zwei Reaktionsorten der Sulfidoxydation gerechnet werden, wobei man konsequenterweise vor dem Cytochrom f im Elektronentransport eine zweite Oxydationsstelle zu sehen hat. Eine genügend hohe Konzentration an Salicylaldoxim bringt an dieser Stelle den Elektronenfluß zum Stillstand und unterbindet damit *in vivo* die Photosynthese. Gleichzeitig ist auch eine Oxydation von Sulfid nicht mehr möglich. Geringere Konzentrationen aber setzen den photosynthetischen Elektronentransport lediglich herab (Abb. 5). So bleibt die Möglichkeit, daß Elektronen des Sulfids nach der Hemmstelle bevorzugt an den verbliebenen Elektronenfluß abgegeben werden. Der Betrag der eingestrahlten Lichtenergie bleibt ja der gleiche und könnte bei einer Salicylaldoxim-Hem-

mung des Elektronenflusses einen Elektronen-Sog im System I schaffen, dem die Elektronen aus dem S^{--} folgen. System I käme damit eine besondere Rolle in der Sulfidoxydation zu. Außerdem läßt die Abhängigkeit der Reaktion von Eisen an eine Beteiligung von Ferredoxin denken.

Offen bleibt im Hinblick auf die mögliche Sulfidoxydation durch System I die Frage, ob diese Reaktion bei Belichtung immer abläuft, oder ob sie nur bei einem durch Salicylaldoxim gehemmten Elektronenfluß stattfinden kann. Gleichfalls bleibt ungeklärt, ob eine Oxydation von Sulfid im O_2-entwickelnden System der Photosynthese immer abläuft oder nur bei Mn-Mangel möglich wird und somit nur bei Anwesenheit nicht nur zur O_2-Produktion verwertbarer (OH)-Radikale einsetzen kann.

Von großer Bedeutung sind in dem Schema die Redox-Potentiale (E) der Reaktionspartner. E_0 hat für H_2S in 1-n H_2SO_4 den Wert von $+0{,}14$ und im alkalischen Bereich den von $-0{,}48$ Volt (Parsons, 1959). Entscheidend sind aber die pH-Werte im Zellinnern. Doch geht aus den Potentialen für H_2S klar hervor, daß Sulfid im diskutierten Schema die Rolle eines Elektronendonators übernehmen kann (Abb. 6).

Zusammenfassung

1. Die das Reaktionssystem II der Photosynthese hemmenden Substanzen DCMU, o-Phenanthrolin und Hydroxylamin unterbinden auch die photosynthetische S^{--}-Oxydation.

2. Die Phosphorylierungsgifte Antimycin A und Carbonylcyanidphenylhydrazon hemmen Photosynthese und Sulfidoxydation über Stunden hinaus.

3. Mn-Mangel führt zu einer Steigerung der S^{--}-Oxydation, was den Schluß zuläßt, daß die Reaktion im O_2-entwickelnden System abläuft.

4. Ein Zusatz von Salicylaldoxim hat ebenfalls eine Beschleunigung der S^{--}-Oxydation zur Folge. Dies deutet — zumindest für den Fall der Salicylaldoxim-Behandlung — auf eine Oxydation des Sulfids im Elektronentransport nach der Hemmstelle des Cu-Komplexbildners.

5. Eisen ist für den Vorgang notwendig und läßt an eine Beteiligung Fe-haltiger Enzyme denken.

6. Im diskutierten Photosyntheseschema ist S^{--} allein schon wegen seiner Redox-Potentiale ein möglicher Elektronendonator für die CO_2-Reduktion.

Die Untersuchungen wurden im Botanischen Institut der Universität Marburg a.d. Lahn begonnen. Herrn Prof. Dr. E. Kessler danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für seinen Rat während der Untersuchungen. Der deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für Sachbeihilfen zu Dank verpflichtet.

Literatur

Arnon, D.I.: Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. **24**, 1—15 (1949).

Bertsch, W. F., J. B. Davidson, and J. R. Azzi: Effects of photosynthetic poisons on delayed light in the millisecond time range. In: Photosynthetic mechanisms of green plants. Natl. Acad. Sci. — Natl. Res. Counc., Washington, 1963, p. 701—710.

Bishop, N. I.: The influence of the herbicide, DCMU, on the oxygen-evolving system of photosynthesis. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **27**, 205—206 (1958).

— Separation of the oxygen evolving system of photosynthesis from the photochemistry in a mutant of *Scenedesmus*. Nature (Lond.) **195**, 55—57 (1962).

— Site of action of copper in photosynthesis. Nature (Lond.) **204**, 401—402 (1964).

—, and H. Gaffron: Photoreduction at λ 705 mμ in adapted algae. Biochem. biophys. Res. Commun. **8**, 471—476 (1962).

— — On the interrealtion of the mechanisms for oxygen and hydrogen evolution in adapted algae. In: Photosynthetic mechanisms of green plants. Natl. Acad. Sci. — Natl. Res. Counc., Washington, 1963, p. 441—451.

Brown, T. E., H. C. Eyster, and H. A. Tanner: Physiological effects of manganese deficiency. In: Trace elements, p. 135—155. New York: Acad. Press 1958.

Calvin, M.: Der Weg des Kohlenstoffs in der Photosynthese. Angew. Chem. **74**, 165—175 (1962).

Clayton, R. K.: Molecular physics in photosynthesis. New York: Blaisdell Publ. Co. 1965.

Dilley, R. A., and L. P. Vernon: Light-induced conformational changes of chloroplasts produced by high energy intermediates of photophosphorylation. Biochem. biophys. Res. Commun. **15**, 473—478 (1964a).

— — Changes in light-absorption and light-scattering properties of spinach chloroplasts upon illumination: Relationship to photophosphorylation. Biochemistry **3**, 817—824 (1964b).

Duysens, L. N. M.: Studies on the mechanism of two photosynthetic pigment systems by means of absorption and fluorescence difference spectrophotometry. La Photosynthèse, p. 75—91. Paris: Editions du Centre Nat. Rech. Sci. 1963.

— Photosynthesis. Progr. Biophys. **14**, 1—104 (1964).

— J. Amesz, and B. M. Kamp: Two photochemical systems in photosynthesis. Nature (Lond.) **190**, 510—511 (1961).

Emerson, R.: Photosynthesis as a function of light intensity and of temperature with different concentrations of chlorophyll. J. gen. Physiol. **12**, 623—639 (1929).

— Dependence of yield of photosynthesis in long-wave red on wave-length and intensity of supplementary light. Science **125**, 746 (1957).

— R. V. Chalmers, and C. Cederstrand: Some factors influencing the long-wave limit of photosynthesis. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 113—143 (1957).

Eyster, C., T. E. Brown, and H. A. Tanner: Manganese requirement with respect to respiration and the Hill reaction in *Chlorella pyrenoidosa*. Arch. Biochem. **64**, 240—241 (1956).

Fork, C. D., and W. Urbach: Evidence for the localization of plastocyanin in the electron-transport chain of photosynthesis. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **53**, 1307—1315 (1965).

Franck, J.: Fluorescenz des Chlorophylls in Zellen und Chloroplasten und ihre Beziehungen zu den Primärakten der Photosynthese. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (W. Ruhland, ed.), vol. **5**, 1, p. 689—735. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Frenkel, A. W.: Light-induced reactions of bacterial chromatophores and their relation to photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. **10**, 53—70 (1959).

Gaffron, H.: On dating stages in photochemical evolution. Horizons in biochemistry (M. Kasha, B. Pullmann, eds.), p. 59—89. New York: Academic Press 1962.

Gerhardt, B., u. A. Trebst: Photosynthetische Reaktionen in lyophilisierten Zellen der Blaualge *Anacystis*. Z. Naturforsch. **20**b, 879—885 (1965).

Gingras, G., and C. Lemasson: A study of the mode of action of 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea on photosynthesis. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **109**, 67—78 (1965).

Green, L. F., J. F. McCarthy, and C. G. King: Inhibition of respiration and photosynthesis in *Chlorella pyrenoidosa* by organic compounds that inhibit catalysis. J. biol. Chem. **128**, 447 (1939).

Heytler, P. G.: Uncoupling of oxidative phosphorylation by carbonyl cyanide phenylhydrazones. I. Some characteristics of m-Cl-CCP action on mitochondria and chloroplasts. Biochemistry **2**, 357—361 (1963).

—, and W. W. Prichard: A new class of uncoupling agents — carbonyl cyanide phenylhydrazones. Biochem. biophys. Res. Commun. **7**, 272—275 (1962).

Katoh, S.: A new copper protein from *Chlorella ellipsoidea*. Nature (Lond.) **186**, 533—534 (1960).

—, and A. Takamiya: A new leaf copper protein "plastocyanin", a natural Hill oxidant. Nature (Lond.) **189**, 665—666 (1961).

Kessler, E.: Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. I. Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese. Planta (Berl.) **49**, 435—454 (1957).

— Biochemische Variabilität der Photosynthese: Photoreduktion und verwandte Photosynthesetypen. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (W. Ruhland, ed.), Bd. 5/1, S. 951—965. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Kikuchi, T.: Production of H_2S from sulfite by a copper-adapted yeast. Plant and Cell Physiol. **6**, 37—46 (1965a).

— Studies on the pathway of sulfide production in a copper-adapted yeast. Plant and Cell Physiol. **6**, 195—210 (1965b).

Kok, B., and G. Hoch: Spectral changes in photosynthesis. A symposium on light and life (W. D. McElroy, B. Glass, eds.), p. 397—416. Baltimore: Johns Hopkins Press 1961.

Losada, M., and D. I. Arnon: In: Metabolic inhibitors, vol. II (R. M. Hochster and J. H. Quastel, eds.). New York: Acad. Press 1963. Zit. nach A. Trebst, 1964.

Parsons, R.: Hdb. of electrochemical constants. London: Butterworths 1959.

Pirson, A.: Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. **31**, 193—267 (1937).

— C. Tichy u. G. Wilhelmi: Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. I. Vergleichende Untersuchungen an Manganmangelkulturen von *Ankistrodesmus*. Planta (Berl.) **40**, 199—253 (1952).

Richter, G.: Die Auswirkung von Mangan-Mangel auf Wachstum und Photosynthese bei der Blaualge *Anacystis nidulans*. Planta (Berl.) **57**, 202—214 (1961).

Rumberg, B., P. Schmidt-Mende, J. Weikard, and T. H. Witt: Correlation between absorption changes and electron transport in photosynthesis. Natl. Acad. Sci. — Natl. Res. Counc., Washington, 1963, p. 18—27.

Simonis, W.: Untersuchungen zur Photosynthese-Phosphorylierung an intakten Algenzellen *(Ankistrodesmus braunii)*. Ber. dtsch. bot. Ges. **77** (5)—(13) (1964).

Tagawa, K., H. Y. Tsujimoto, and D. I. Arnon: Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis. Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.) **49**, 567—572 (1963).

Trebst, A.: Zur Hemmung photosynthetischer Reaktionen durch Salicylaldoxim. Z. Naturforsch. **18b**, 817—821 (1963).

— Neuere Vorstellungen über den Mechanismus der Photosynthese. Ber. dtsch. bot. Ges. **77**, (123)—(142) (1964).

— H. Eck, and S. Wagner: Effects of quinones and oxygen in the electron transport system of chloroplasts. Photosynthetic mechanisms of green plants. Natl. Acad. Sci. — Natl. Res. Counc., Washington, 1963, p. 174—194.

Urbach, W., and W. Simonis: Inhibitor studies on the photophosphorylation *in vivo* by unicellular algae *(Ankistrodesmus)* with antimycin A, HOQNO, salicylaldoxime, and DCMU. Biochem. biophys. Res. Commun. **17**, 39—45 (1964).

Vernon, L. P., and M. Avron: Photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. **34**, 269—296 (1965).

Walter, P., and H. A. Lardy: Effect of antimycin A on oxidative phosphorylation with ferricyanide as electron acceptor. Biochemistry **3**, 812—816 (1964).

Wessels, J. S. C.: The action of some derivatives of phenyl-urethan and of 3-phenyl-1,1-dimethyl-urea on the Hill-reaction. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **19**, 548—549 (1956).

Whatley, F. R., M. B. Allen, and D. I. Arnon: Photosynthesis by isolated chloroplasts. VII. Vitamin K and riboflavin phosphate as cofactors of cyclic photophosphorylation. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **32**, 32—46 (1959).

Wiessner, W.: Wachstum und Stoffwechsel von *Rhodopseudomonas spheroides* in Abhängigkeit von der Versorgung mit Mangan und Eisen. Flora (Jena) **149**, 1—42 (1960).

Witt, H. T., A. Müller u. B. Rumberg: Zwei Primärprozesse bei der Photosynthese. Angew. Chemie **73**, 507—508 (1961a).

— — — Experimental evidence for the mechanism of photosynthesis. Nature (Lond.) **191**, 194—195 (1961b).

— — — Oxidized cytochrome and chlorophyll C_2^+ in photosynthesis. Nature (Lond.) **192**, 967—969 (1961c).

— B. Rumberg, P. Schmidt-Mende, U. Siggel, B. Skerra, J. Vater u. J. Weikard: Über die Analyse der Photosynthese mit Blitzlicht. Angew. Chemie **77**, 821—842 (1965).

Karl Knobloch
Botanisches Institut der Universität
852 Erlangen, Schloßgarten 4

Lebenslauf

Am 9. Oktober 1937 wurde ich in Neisse, Oberschlesien geboren. Seit Kriegsende in Hessen ansässig besuchte ich das Realgymnasium in Frankenberg/Eder und legte im Frühjahr 1957 die Reifeprüfung ab. In den folgenden beiden Jahren war ich Apothekerpraktikant in der Rathaus-Apotheke in Frankenberg. Die Lehrzeit beendete ich mit der bestandenen pharmazeutischen Vorprüfung in Kassel im März 1959. Anschließend studierte ich Pharmazie an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn. Dort bestand ich im Frühjahr 1962 das Pharmazeutische Staatexamen. In Marburg studierte ich anschließend Biologie und Biochemie und erhielt das Thema meiner Doktorarbeit von Herrn Prof. Dr. E. Kessler. Im Sommersemester 1964 bin ich mit Professor Kessler nach Erlangen gekommen und wurde im Dezember 1964 Wissenschaftlicher Assistent am Botanischen Institut der Universität.